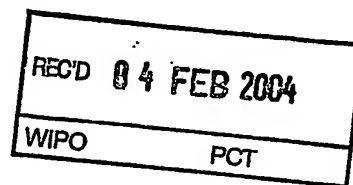


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 56 415.9

Anmeldetag: 02. Dezember 2002

Anmelder/Inhaber: Siemens Aktiengesellschaft, München/DE

Bezeichnung: Verfahren und Vorrichtung zum Transport bzw. zur
bindungspezifischen Trennung elektrisch geladener
Moleküle

IPC: G 01 N 27/447

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 2. September 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Beschreibung

Verfahren und Vorrichtung zum Transport bzw. zur bindungsspezifischen Trennung elektrisch geladener Moleküle

5

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zum Transport bzw. zur bindungsspezifischen Trennung elektrisch geladener Moleküle in einer wässrigen Lösung, insbesondere beim Betrieb eines DNA-Sensors mit einem Redox-Cycling-Prozess zwischen zwei Messelektroden. Daneben bezieht sich die Erfindung auf die zugehörigen Vorrichtungen.

10

Bei zahlreichen Verfahren der Molekularbiologie spielt der Transport von geladenen Teilchen im elektrischen Feld (Migration) eine wichtige Rolle. Die Wanderungsgeschwindigkeit v der geladenen Teilchen im flüssigen Medium ist dabei proportional der Feldstärke E und der Ionenladung Q und umgekehrt proportional dem Teilchenradius r und der Viskosität η der Suspension. Es ergibt sich für die Geschwindigkeit v :

20

$$v = QE/6\pi r\eta \quad (1)$$

25

Bei der Elektrophorese z.B. werden Biomoleküle, d.h. vor allem Proteine und DNA, die sich bezüglich ihrer Größe und/oder Ladung unterscheiden, voneinander getrennt. Die Anwesenheit von anderen beweglichen, geladenen Teilchen ist bei bestimmten Formen der elektrophoretischen Trennung (z.B. isoelektrische Fokussierung) zu vermeiden, da sonst der Ladungstransport teilweise oder ganz von diesen und nicht von den zu trennenden Molekülen übernommen wird. Als Puffer werden daher oft Aminosäuren verwendet, die ihren isoelektrischen Punkt beim gewünschten pH-Wert haben. Das heißt, beim eingestellten pH-Wert haben die Puffermoleküle selbst keine Nettoladung und unterliegen daher nicht der Migration.

30

35 Auch beim Transport von geladenen Molekülen, z.B. um die Konzentration an einem bestimmten Ort zu erhöhen oder zu ernied-

rigen, werden elektrische Felder eingesetzt. Insbesondere bei Mikrosensoren, z.B. zur DNA-Analyse, kann die Empfindlichkeit gesteigert werden, wenn die zu detektierenden DNA-Fragmente (Zielmoleküle) am Ort der Fängermoleküle (Sensoroberfläche)

5 konzentriert werden. Gemäß dem Massenwirkungsgesetz steigt damit die Zahl der Fänger-/Zielmolekülbindungen. In jedem Fall werden bei einer solchen Reaktion aber nicht nur Fänger-/Zielmolekülpaare gebildet, die exakt zueinander passen, sondern auch solche, deren Sequenz an einigen Stellen nicht ex-
10 akt miteinander korrespondieren (Mismatches).

Da die Größe der Bindungsenergie mit der Zahl der nicht korrespondierenden Basen abnimmt, können durch die Anwendung entsprechender Kräfte selektiv solche Bindungen wieder ge-
15 trennt werden, die eine bestimmte Zahl von Mismatches besitzen (Stringenzbehandlung). Als Kraft kann hier ein elektrisches Feld wirksam werden, das im Gegensatz zum ersten Prozess, dem Konzentrieren der Moleküle, eine entgegengesetzte Polarität aufweist.

20

Vorraussetzung für den Transport von geladenen Teilchen im elektrischen Feld ist ein Feldgradient, der innerhalb des Elektrolyten bzw. der Transportstrecke, streng monoton verläuft. Das heißt, der Feldgradient darf sein Vorzeichen nicht ändern und nicht zu Null werden. Das Anlegen einer beliebigen Spannung ist dazu für wässrige Systeme nicht zwangsläufig ausreichend. In Abwesenheit einer chemischen Reaktion vor den Elektroden fällt die Spannung über die elektrochemische Doppelschicht ab und der Feldgradient zwischen den Elektroden
30 wird zu Null. Wenn allerdings eine Reduktions- bzw. Oxidationsreaktion an den Elektroden stattfindet, wird die Doppelschicht vor den Elektroden depolarisiert und das elektrische Feld verläuft streng monoton innerhalb des Elektrolyten. Ein Ionentransport im wässrigen Elektrolyten ist die Folge.

35

Ein häufig angewendetes Verfahren zur Erzeugung solcher elektrischer Felder in wässrigen Systemen ist das Anlegen der

Zersetzungsspannung von Wasser. Dabei wird an der Anode Sauerstoff und an der Kathode Wasserstoff entwickelt. Bei der experimentelle Durchführung muss darauf geachtet werden, dass die Gase und insbesondere ihre radikalischen Vorstufen nicht mit den zu untersuchenden Molekülen in Kontakt kommen, da diese sonst chemisch verändert würden. In makroskopischen Systemen geschieht dies durch Trennung der Elektrolyträume direkt vor den Elektroden vom Elektrolytraum zwischen den Elektroden, z.B. durch Diaphragmen. Für Mikrosensoren ist diese Lösung problematisch, da Diaphragmen nicht praktikabel sind.

Eine Möglichkeit zur Elektrophorese in Mikrosystemen besteht darin, dass sogenannte Permeationslayer aus hydrophilem Polymer vor den Elektroden eingeführt werden, wozu auf die US 5 605 662 A verwiesen wird. Die Beweglichkeit von Reaktionsprodukten der Wasserelektrolyse und der zu transportierenden DNA ist in dieser Schicht stark gehemmt, so dass eine Durchmischung quasi nicht stattfindet. Der Ladungstransport im Permeationslayer wird von kleineren Ionen übernommen.

Obwohl das bekannte Verfahren praktikabel ist, wird durch die Einführung neuer Polymer-Schichten die Herstellung des Mikrosensorschips deutlich aufwändiger und damit teurer.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, ein geeignetes Verfahren zum Transport der geladenen Moleküle mittels eines elektrischen Feldes anzugeben, bei denen an der Elektrode keine Wasserstoff- bzw. Sauerstoffentwicklung eintritt. Insbesondere sollen mit unter Ausnutzung des Elektrophoreseverfahrens entsprechende Mikrosysteme geschaffen werden, welche mit Standard-Materialien und Schichten der Chipherstellung auskommen.

Die Aufgabe ist bezüglich des Verfahrens durch die Merkmale alternativ des Patentanspruches 1 oder des Patentanspruches 11 gelöst. Eine zugehörige Vorrichtung ist im Patentanspruch

15 angegeben. Weiterbildungen des Verfahrens bzw. der Vorrichtung sind Gegenstand der jeweils abhängigen Ansprüche.

Bei der Erfindung können mit prinzipiell einem Aufbau fakultativ die erfindungsgemäßen Verfahren gemäß Patentanspruch 1
5 oder Patentanspruch 11 ausgeführt werden. Vorteilhaft ist es, beide Verfahren miteinander zu kombinieren, beispielsweise auch zyklisch.

10 Die Erfindung macht sich bei der Anwendung des Elektrophoreseverfahrens zunutze, dass zur Erzeugung des elektrischen Feldes in der Analytlösung außer der Elektrolyse von Wasser auch andere Reaktionen eingesetzt werden können. Gemäß der Erfindung wird ein Metall/Metallionkomplex, z.B. Kupfer/
15 Kupferhistidinkomplex, als Depolarisator vor den Elektroden vorgeschlagen. Bei positiver Polarisierung einer mit Kupfer beschichteten Elektrode zwecks Aufkonzentrierung negativ geladener Ionen wird dann nicht Sauerstoff entwickelt, statt dessen geht das Kupfer als Ion in Lösung. Ist dort ein Kom-
20 plexbildner für das Metall, z.B. Histidin für Kupfer, vorhanden, so bleibt das Metallion stabil in Lösung. Da z.B. der Kupfer-Histidin-Komplex sehr stabil ist, bleibt die Konzentration der freien Kupferionen sehr klein und nahezu konstant. Ein Einfluss der Kupferionen auf die DNA-Hybridisierung wird dadurch vermieden.

Soll die Elektrode negativ polarisiert werden, um z.B. die Selektivität der Fänger-/Zielmolekülbindung zu erhöhen (Stringenzbehandlung), d.h. unspezifisch gebundene, nicht-
30 komplementäre Proben-DNA von der Fänger-DNA zu entfernen, werden bei Anwesenheit eines Metallionenkomplexes eines hinreichend edlen Metalls, z.B. Kupfer, die Metallionen reduziert und dabei auf den Elektroden (in diesem Fall den Messelektroden) abgeschieden. Eine Wasserstoffentwicklung wird
35 dadurch vermieden. Der Komplexbildner für das Metallion kann u.U. auch gleichzeitig als Puffer dienen. Histidin wird beispielsweise als Puffer bei pH = 7 eingesetzt. Das auf den

Mess-Elektroden abgeschiedene Kupfer kann in einem Waschs-
Schritt durch erneutes Anlegen von negativem Potenzial ent-
fernt werden. Ein Abstoßen der Zielmoleküle wird dadurch ver-
hindert, dass eine Waschlösung mit hoher Ionenstärke einge-
5 setzt wird, so dass nur z.B. Kupfer in Form von Cu^{2+} -Ionen
entfernt wird, die Ziel-DNA jedoch nicht bewegt wird.

Der Vorteil eines auf Metall/Metallionkomplex basierenden
Elektrophoreseverfahrens liegt in der geringeren Spannung,
10 die zur Erzeugung des elektrischen Feldes notwendig ist. Sie
ist niedriger als die Elektrolysespannung von Wasser, so dass
die aggressiven Produkte der Wasserelektrolyse nicht entste-
hen können. Damit wird eine Trennung von Elektrolyse- und
Elektrophoreseraum unnötig. Trotzdem reicht das erzeugte Feld
15 aus, um die gewünschten Moleküle im Analyten zu transportie-
ren.

Kupfer wird bereits heute für Leiterbahnen verwendet und kann
künftig als Elektrodenmaterial für Sensoranwendungen bzw.
20 mikrosystemtechnische Anwendungen wie Mikro-Elektrophorese
eingesetzt werden. Bei der Herstellung eines solchen Mikro-
systems kann daher auf kostengünstige Standardverfahren der
Halbleitertechnik zurückgegriffen werden.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung ergeben sich
aus der nachfolgenden Figurenbeschreibung von Ausführungsbei-
spielen anhand der Zeichnung in Verbindung mit den Patentan-
sprüchen. Es zeigen

30 Figur 1 einen prinzipiellen Aufbau zur Durchführung
des erfindungsgemäßen Verfahrens,
Figuren 2 bis 4 Querschnitte unterschiedlich ausgebildeter
Anordnungen,
Figur 5a und 5b bei Anordnungen gemäß Figur 3 verfahrensmä-
35 ßig das Anreichern von Zielmolekülen von
geringer zu hoher Konzentration,

Figur 6a und 6b verfahrensmäßig eine Situation gemäß Figur 5b, bei der jedoch auch unspezifische, d.h. nicht-komplementäre Proben-DNA vorliegen, die einer sogenannten Stringenz-Behandlung unterliegen,

Figur 7 den Elektroden-Prozess bei der erfindungsgemäßen Verwendung einer Opferelektrode, sowie eines Komplexbildners,

Figuren 8 bis 10 Draufsichten auf unterschiedliche Messelektroden-Konfigurationen

Figur 11 eine Messanordnung mit nebeneinander angeordneten Messpositionen im Querschnitt und

Figur 12 eine aus Einzelpositionen entsprechend der Figur 8 gebildete Arrayanordnung in der Draufsicht.

Die Figuren werden teilweise gemeinsam beschrieben.

Aus Figur 1 ist der prinzipielle Aufbau einer allgemeinen Anordnung zur Durchführung von biochemischen Messungen ersichtlich. Mit 1 ist ein planares Substrat, z.B. aus Silicium, bezeichnet, auf dem eine dünne Isolatorschicht 2, z.B. aus Siliciumoxid (SiO_2) aufgebracht ist. Auf dieser Anordnung befinden sich zwei Messelektroden 20 und 30, die vorzugsweise aus Edelmetall, insbesondere Gold, bestehen. Die gesamte Messanordnung befindet sich in Kontakt mit einer wässrigen Lösung 15.

In der wässrigen Lösung 15 befinden sich negativ geladene Makro-Moleküle, was in Figur 1 durch die Knäuel-Struktur verdeutlicht wird, und die weiter unten in Figur 5 im Einzelnen mit 200, 200' beziffert sind. Die negativ geladenen Moleküle sollen zu den Messelektroden 20, 30 transportiert werden und werden nachfolgend auch als Zielmoleküle bezeichnet. Im Falle einer DNA-Analyse sind die Zielmoleküle die zu untersuchende DNA. Über Fängermoleküle, die z.B. in einer Hydrogelschicht immobilisierbar sind, kann die Ziel-DNA zwecks Messung in der Nähe der Elektroden 20, 30 angelagert werden.

In der wässrigen Lösung 15 ist weiterhin ein Material vorhanden, das in der wässrigen Lösung beständig und unedler als das Metall der Messelektroden ist. Im allgemeinsten Fall ist das Material eine Metall/Metallion(Me/Me^+)-Kombination, beispielsweise Cu/Cu^{2+} . Dies bedeutet, dass entsprechend den vorgegebenen Potenzialverhältnissen entweder metallisches Kupfer Cu^0 unter Abgabe von zwei Elektronen aufgelöst wird oder Kupfer(II)-Ionen Cu^{2+} unter Aufnahme von zwei Elektronen abgeschieden werden können, wobei gilt:



Bei der Anordnung gemäß Figur 5 kann bei einer Kupferelektrode als Opfer-Anode 40 durch Anlegen eines positiven Potentials als Cu^{2+} in Lösung gehen. Dadurch werden dort die negativen Zielmoleküle 200 zur Kupferelektrode 40 bewegt und reichern sich in deren Nähe und damit auch im Bereich der Messelektroden 20, 30 an.

Sofern bei Anwesenheit von Cu^{2+} -Ionen in der wässrigen Lösung an die Messelektroden 20,30 gemäß Figur 6 ein geeignetes negatives Potenzial angelegt wird, lösen sich diejenigen Fängermolekül/Ziel-DNA-Bindungen, die aufgrund nicht vollständiger Komplementarität eine verminderte Bindungsstärke aufweisen. Dabei werden gleichzeitig Kupfer(II)-Ionen (Cu^{2+}) an den Messelektroden zu metallischem Kupfer (Cu^0) reduziert.

Anhand der Figuren 5a, 5b einerseits und 6a, 6b andererseits sowie Figur 7 werden die methodischen Prozesse gemäß den in Figur 1 nur prinzipiell aufgezeigten Alternativen verdeutlicht. Speziell in den Figuren 5a bis 6b ist über den Messelektroden 20 und 30, welche Sensoroberflächen 21 und 31 haben, jeweils eine Hydrogelschicht 35 aufgebracht, in welcher Fängermoleküle 100 für Zielmoleküle 200, die sich außerhalb der Hydrogelschicht 35 befinden, eingeschlossen sind. Wesentlich ist dabei, dass die Fängermoleküle 100 die Zielmoleküle

200 einfangen bzw. binden und damit der Analyse an der Sensorfläche 21 bzw. 31 zuführen. Zu dieser Methodik wird beispielsweise auf die ältere Anmeldung PCT/DE 02/01982 der Anmelderin verwiesen.

5

Die Fänger-Moleküle 100 können beispielsweise spezielle thiolmodifizierte Oligonukleotide sein. Ziel-Moleküle 200, die von den Fänger-Molekülen 100 gebunden werden sollen, sind die zu analysierenden DNA's.

10

Im Allgemeinen liegt bei einer bekannten Messanordnung ein Zustand gemäß Figur 5a vor, bei dem die Ziel-DNA nur in geringer Konzentration über der Fänger-DNA vorliegt. Hier ist es schwierig, zu sicheren Messergebnissen zu kommen. Bei einer Anordnung gemäß Figur 5b liegt dagegen die Ziel-DNA in hoher Konzentration über der Fänger-DNA vor, was durch eine DNA-Anreicherung erreicht wird. In diesem Zustand können gute Messergebnisse erzielt werden.

15

20 An der Fänger-DNA binden entsprechend der Figur 6a außer der komplementären Ziel-DNA 200 auch nicht vollständig komplementäre DNA-Fragmente 200'. Durch eine Stringenz-Behandlung lässt sich unspezifisch gebundene DNA durch Beaufschlagen der Elektroden mit jeweils geeigneten Potentialen selektiv entfernen. Die unspezifisch gebundene DNA wird dann aufgrund ihrer schwächeren Bindungskräfte abgestoßen.

Aus der Figur 1 sowie den Teilfiguren 5a und 5b ist ersichtlich, dass durch Anlegen spezifischer Potenziale an die
30 Hilfselektrode 40 eine gewünschte Anreicherung der Ziel-DNA erreicht wird. Im Einzelnen wird dazu eine Hilfselektrode 40 aus unedlem Metall, beispielsweise Kupfer, gewählt und an die Hilfselektrode 40 ein positives Potential angelegt. Sofern sich die gesamte Anordnung in einer wässrigen Lösung befindet,
35 gehen Cu^{2+} -Ionen in Lösung. Dadurch entsteht ein Feldgradient und die negativ geladenen DNA-Moleküle werden angezogen.

Letzterer Prozess wird im Wesentlichen durch Figur 7 verdeutlicht. Insbesondere ist hier ersichtlich, dass das in Lösung gebrachte Kupfer-Ion komplexiert wird, wozu Histidin-Moleküle
5 70 verwendet werden.

Aus der Figur 1 sowie den Teilfiguren 6a und 6b ist ersichtlich, dass durch Anlegen spezifischer Potenziale an die Messelektroden 20 30 und Hilfselektroden 40, 45 eine gewünschte
10 Selektion der DNA erreicht wird. Im Einzelnen werden die Messelektroden negativ, die Hilfselektroden positiv polarisiert. Sofern sich die gesamte Anordnung in einer wässrigen Lösung befindet, die Kupfer(II)-Ionen (Cu^{2+}) enthält, werden diese auf den Messelektroden 20,30 zu metallischem Kupfer
15 (Cu^0) reduziert. Dadurch entsteht ein Feldgradient und die negativ geladene, nicht vollständig komplementäre DNA wird abgestoßen.

Beide Alternativen können separat oder aber kombiniert ablaufen. Zunächst werden Zielmoleküle angereichert und dann selektiert. Es kann aber auch nur eine Selektion vorgenommen werden.

In den Figuren 2 bis 4 sind unterschiedliche Varianten von Sensoranordnungen dargestellt. In Figur 2 haben die aus Gold gebildeten Messelektroden 20, 30 freie Gold-Sensorflächen 21, 31, an die die Fänger-DNA 100 gebunden sind. Alternativ ist in Figur 3 ein Hydrogel 35 vorhanden, welches Fänger-DNA 100 enthält. Speziell in Figur 4 ist eine Anordnung dargestellt, bei der neben den eigentlichen Messelektroden 20 und
30 30 weiterhin eine freie Reaktionsfläche 50 aus Gold vorhanden ist, an welcher die Fänger-DNA 100 in einer dichten Anordnung gebunden sind. Dies hat den Vorteil einer großen Dichte von Fänger-DANN. Allerdings müssen bei der Herstellung der Reaktionsfläche 50 zunächst die Messelektroden 20, 30 durch Kupfer oder dergleichen abgedeckt werden,, um dort eine Anlage-
35 rung der Fänger-DNA 100 zu verhindern. In Figur 4 sind dafür

Kupfer-Schichten 22 bzw. 32 vorhanden. Bei allen Anordnungen gemäß den Figuren 2 bis 4 ist jeweils die Opferelektrode 40 in der Nähe der Messelektroden 20 und 30 angeordnet, um durch das Inlösunggehen von Kupfer den Feldgradienten aufzubauen und damit die Anreicherung der Ziel-DNA 200 in der Nähe der Messelektroden 20 und 30 zu bewirken. Im Ergebnis kann somit die Messgenauigkeit erheblich verbessert werden.

In den Figuren 8 bis 10 sind die verschiedenen Varianten von Messsensoren gemäß den Figuren 2 bis 4 in der Draufsicht dargestellt. Speziell in Figur 8 ist ein Messsensor 80 vorhanden, der aus zwei Kammelektroden 82 und 83 mit ineinander greifenden Elektrodenfingern besteht, wobei eine einzige Opferelektrode 84 ringartig um die Kammelektroden angeordnet sind.

Entsprechendes ergibt sich aus Figur 9, wobei hier der Bereich der Kammelektroden mit der Hydrogelschicht 85 abgedeckt ist. Eine derartige Hydrogelschicht kann sich über der gesamten Messanordnung befinden. Speziell in Figur 10 sind zusätzlich noch Reaktionsflächen 86 zum Anlagern von Fängermolekülen vorhanden.

Aus den Einzelsensoren gemäß den Figuren 8 bis 10 können Arrays konzipiert werden, die n-Zeilen und m-Spalten haben. Aus den Figuren 11 und 12 ist eine Komplettanordnung mit einer Vielzahl von Messsensoren 80, 80', ... die das n-m-Array darstellen. Dabei ist es prinzipiell möglich, das Array mit Einzelpositionen entsprechend einer der Figuren 8 bis 10 aufzubauen, bei der jede Einzelposition eine ringartige Kupfer-Opferanode 84 hat. Um die gesamte m-n-Anordnung mit den Einzelpositionen ist dabei als weiterer Ring die Hilfselektrode 185 angeordnet.

Gemäß Figur 11 befindet sich die Komplettanordnung 180 in einem Behälter, z.B. einem Durchflussskanal 150, mit einem Deckel 120, einem Zufluss 121 und einem Abfluss 122.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Transport elektrisch geladener Moleküle in einer wässrigen Lösung, insbesondere beim Betrieb eines DNA-Sensors mit einem Redox-Cycling-Prozess zwischen zwei Messelektroden, g e k e n n z e i c h n e t durch folgende Maßnahmen:
- in der Nähe der Messelektroden wird ein metallisches Material, das im wässrigen Elektrolyten beständig und unedler als das der Messelektrode ist, als potenzialbeaufschlagbare Elektrode angeordnet,
 - durch Anlegen eines positiven Potentials an die Elektrode wird das metallische Material als positives Ion in Lösung gebracht,
 - wodurch negativ geladene Moleküle in die entgegengesetzte Richtung transportiert und an den Messelektroden angereichert werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die in Lösung gehende Metallionen durch die Anwesenheit eines Komplexbildners komplexiert werden, wodurch ihre Konzentration gering und nahezu konstant gehalten wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 bis 2, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass als metallisches Material Kupfer verwendet wird, welches eine Kupfer-Opfer-Anode bildet.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass als Komplexbildner zur Komplexierung des Kupfer-Ions Histidin verwendet wird.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die angereicherten Moleküle diejenigen Moleküle sind, die bei der DNA-Analyse detektiert werden sollen (Zielmoleküle).

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass zum Detektieren der Zielmoleküle an einer Sensoroberfläche Fängermoleküle vorhanden sind.

5

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Fängermoleküle thiolmodifizierte Fängermoleküle verwendet werden.

10

8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Fängermoleküle hydrogelgebundene Fängermoleküle verwendet werden.

15

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Elektrophoreseverfahren ausgeführt wird.

20

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine DNA-Analyse von DNA-Fragmenten erfolgt.

11. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass durch Polarisierung der für die Elektrophorese bzw. DNA-Analyse verwendeten Elektroden die Selektivität des Prozesses erhöht wird.

30

12. Verfahren zur bindungsspezifischen Trennung elektrisch geladener Moleküle in einer wässrigen Lösung, insbesondere beim Betrieb eines DNA-Sensors mit einem Redox-Cycling-Prozess zwischen zwei Messelektroden, gekennzeichnet durch folgende Maßnahmen:

35

- in der wässrigen Lösung befinden sich Metallionen
- durch Anlegen eines negativen Potentials an die Messelektroden wird das Metallion an den Messelektroden als Metall abgeschieden,
- wodurch negativ geladene, in der Nähe der Messelektroden gebundene Moleküle mit einer hinreichend niedrigen Bin-

dungsenergie von den Messelektroden wegtransportiert werden.

13. Verfahren nach Anspruch 12, d a d u r c h g e -
5 k e n n z e i c h n e t , dass als Metallionen Kupfer und
als Messelektroden Gold verwendet werden.
14. Verfahren nach Anspruch 12, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die von den Messelektroden
10 wegtransportierten Moleküle solche Zielmoleküle sind, die bei
der DNA-Analyse nicht detektiert werden sollen.
15. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch
1 oder Anspruch 11 bzw. einem der Ansprüche 2 bis 10 oder ei-
15 nem der Ansprüche 12 bis 14, mit einer Anordnung aus Mess-
Elektroden (20, 30) zur elektrochemischen Messung in einer
wässrigen Lösung (15), wobei in der wässrigen Lösung Metall-
ionen bzw. Häufungen (40) von Metall aus unedlerem Material
als das der Messelektroden (20, 30), wobei das Material in
20 wässriger Lösung (15) beständig ist, vorhanden sind.
16. Vorrichtung nach Anspruch 11, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Messelektroden (20, 30)
aus Edelmetall, insbesondere Gold, bestehen.
17. Vorrichtung nach Anspruch 11, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass das Metall Kupfer ist und
eine Opferelektrode (40) bildet.
- 30 18. Vorrichtung nach Anspruch 12, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Messelektroden aus Gold
eine Sensoroberfläche (21, 31) aufweisen, an der die Fänger-
moleküle für die Ziel-DNA (200) gebunden sind.
- 35 19. Vorrichtung nach Anspruch 11, d a d u r c h g e -
k e n n z e i c h n e t , dass die Messelektroden (20, 30)

eine Interdigitalstruktur aus Kammelektroden (82, 83) mit ineinander greifenden Elektrodenfingern bildet.

5 20. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Opferelektrode (84) ringartig um die Kammelektroden (82, 83) angeordnet ist.

10 21. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass auf den Messelektroden (20, 30) eine Hydrogelschicht (35) zum Binden der Fängermoleküle (100) angeordnet ist.

15 22. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass den Messelektroden (20, 30) separate Reaktionsflächen (50) zum Anlagern der Fängermoleküle (100) zugeordnet ist.

20 23. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass von einzelnen Interdigitalstrukturen (80, 80', ...) mit Opferelektrode (84) ein Array (80) mit m Zeilen und n Spalten gebildet ist.

24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass eine Hilfselektrode (185) zu den einzelnen Operelektroden (84) ringartig um das m-n-Array (180) verläuft.

Zusammenfassung

Verfahren und Vorrichtung zum Transport bzw. zur bindungsspezifischen Trennung elektrisch geladener Moleküle

5

10

15

20

Zur Schaffung eines DNA-Sensors müssen elektrisch geladene Moleküle transportiert werden. Gemäß der Erfindung erfolgen folgende Maßnahmen: Es werden unedle Metalle als positives Ion in Lösung gebracht, wodurch negativ geladene Moleküle in die entgegengesetzte Richtung transportiert und in der Nähe der Messelektroden angereichert werden. Durch Ausbildung von Metallschichten auf den Messelektroden durch Anlagern der Metallionen aus der Lösung lässt sich bei Vorgabe eines geeigneten Potentials eine bindungsspezifische Trennung der geladenen Moleküle erreichen. Insbesondere können somit Ziel-DNA in die Nähe von Fänger-Molekülen an den Messelektroden gebracht und auch unspezifisch gebundene DNA entfernt werden. Bei der zugehörigen Vorrichtung ist der Elektrodenanordnung (20, 30) eine Opferanode (40) aus unedlerem Metall als das Material der Messelektroden (20, 30) zugeordnet. Die Messelektroden (20, 30) bestehen insbesondere aus Edelmetall, vorzugsweise Gold, und die Opferanode (40) aus Kupfer.

FIG 1

FIG 1

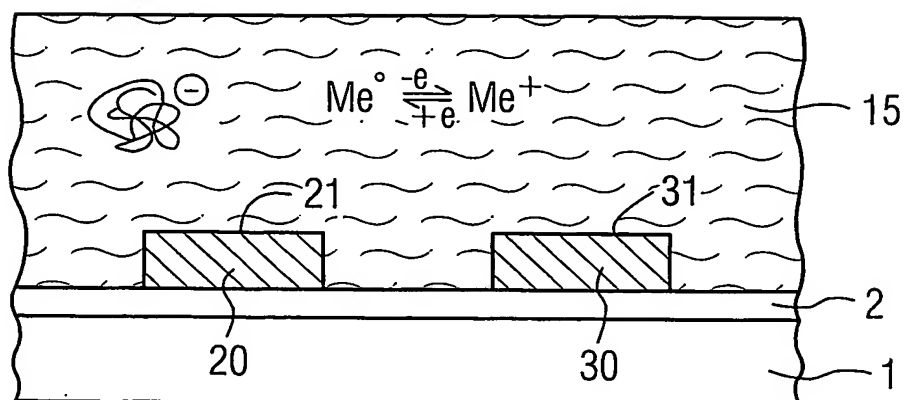


FIG 2

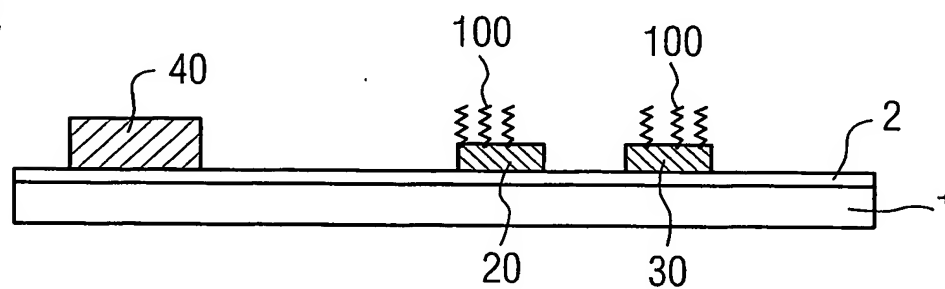


FIG 3

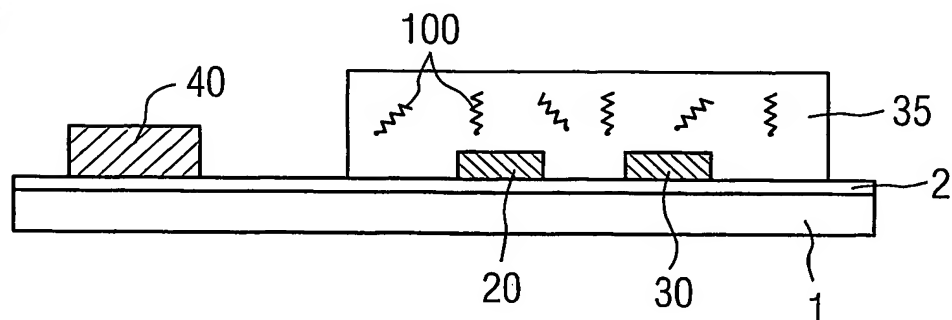


FIG 4

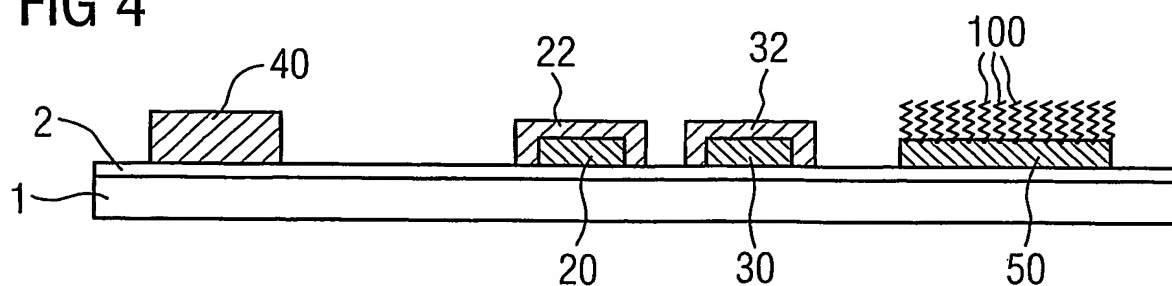


FIG 5

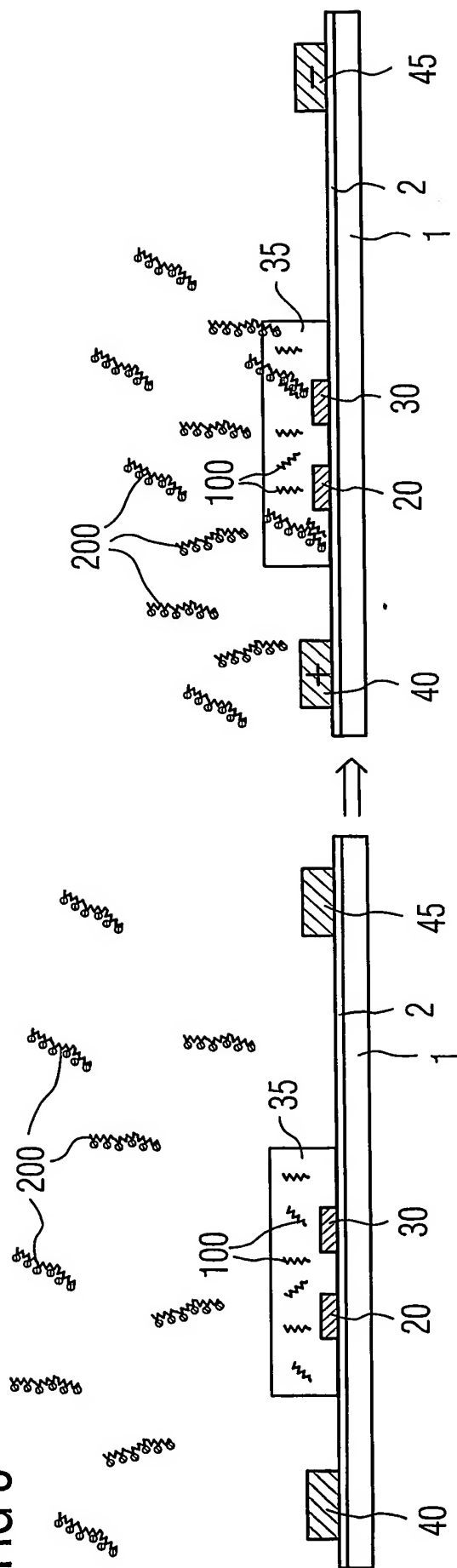


FIG 6

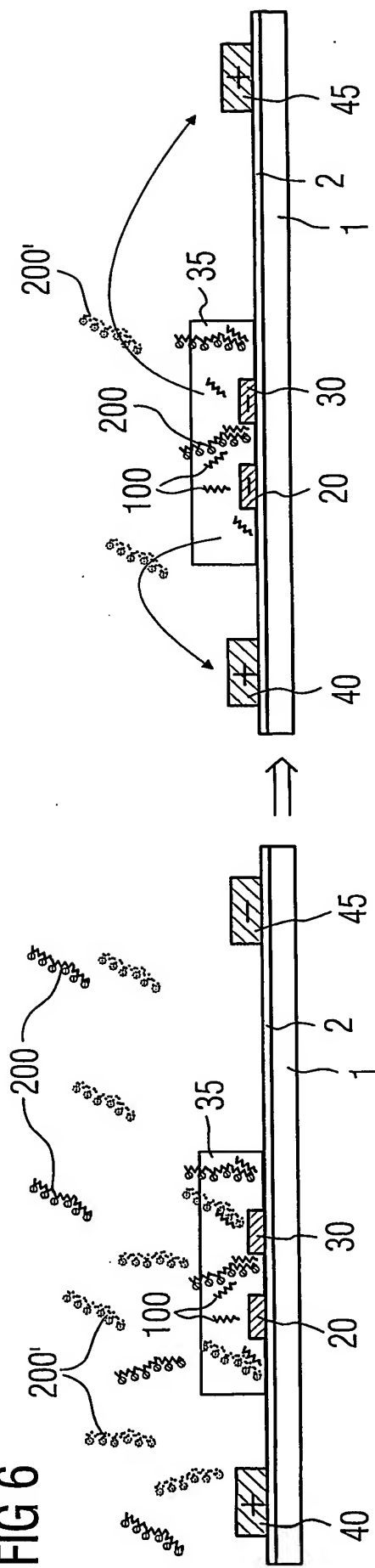


FIG 7

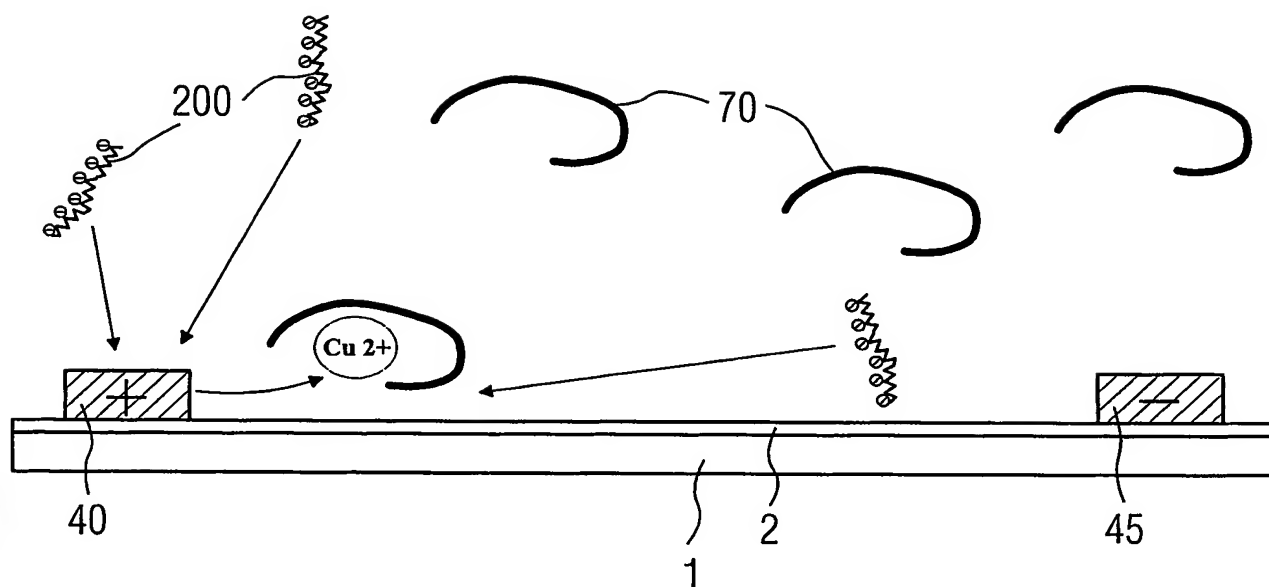


FIG 8

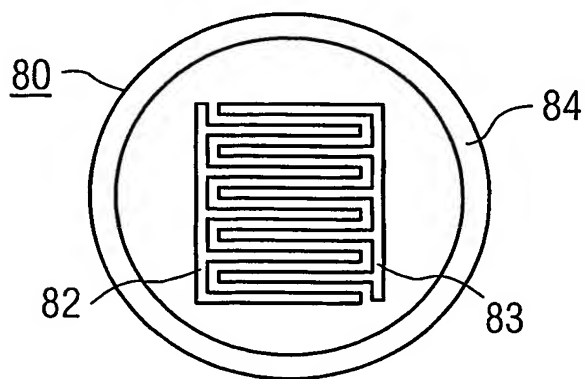


FIG 9

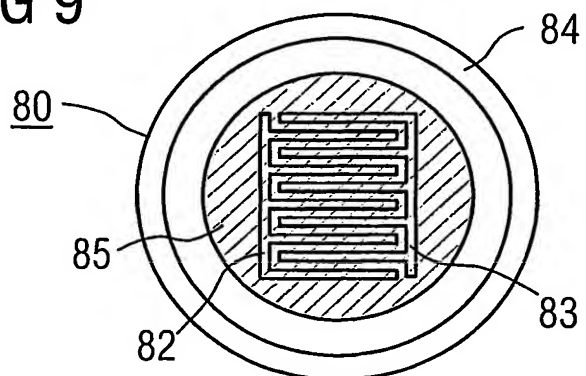


FIG 10

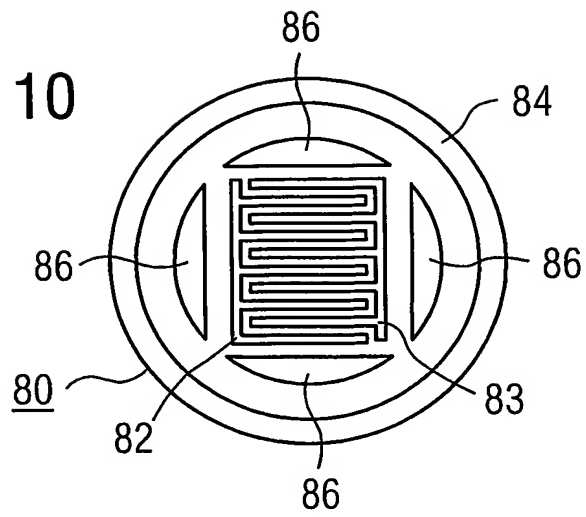


FIG 11

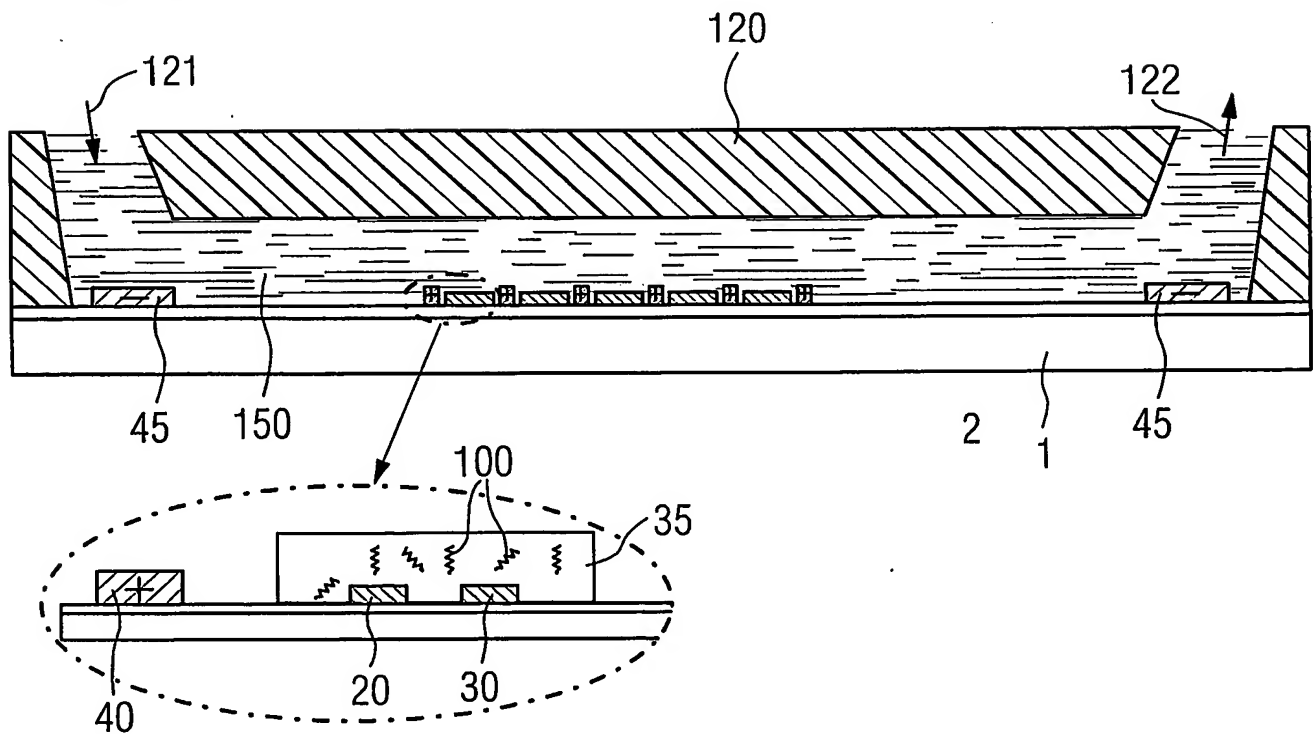


FIG 12

